PCT WELTORGANISATION FÜR GEISTIGES EIGENTUM
Internationales Büro

INTERNATIONALE ANMELDUNG VERÖFFENTLICHT NACH DEM VERTRAG ÜBER DIE INTERNATIONALE ZUSAMMENARBEIT AUF DEM GEBIET DES PATENTWESENS (PCT)

(51) **Internationale Patentklassifikation** [7] :
A61K 38/18, 47/30, A61P 17/02, 19/00 // (A61K 38/18, 38:36) (A61K 38/18, 38:39) (A61K 38/18, 31:715) (A61K 38/18, 38:38)

A2

(11) **Internationale Veröffentlichungsnummer:** **WO 00/15248**

(43) **Internationales Veröffentlichungsdatum:** 23. März 2000 (23.03.00)

(21) **Internationales Aktenzeichen:** PCT/EP99/06713

(22) **Internationales Anmeldedatum:** 10. September 1999 (10.09.99)

(30) **Prioritätsdaten:**
198 41 698.9 11. September 1998 (11.09.98) DE

(71) **Anmelder** *(für alle Bestimmungsstaaten ausser US)*: CURATIVE TECHNOLOGIES GMBH [DE/DE]; Zum Schürmannsgraben 12, D–47441 Moers (DE).

(72) **Erfinder; und**
(75) **Erfinder/Anmelder** *(nur für US)*: JANOWICZ, Zbigniew, A. [DE/DE]; Millrather Weg 74, D–40699 Erkrath (DE). HOFMANN, Peter [DE/DE]; Dr.–Max–Ehrenpfordt–Strasse 1, D–35287 Amöneburg (DE). SPILLECKE, Frank, Heinz [DE/DE]; Achterstrasse 64, D–50678 Köln (DE).

(74) **Anwalt:** GRÜNECKER, KINKELDEY, STOCKMAIR & SCHWANHÄUSSER; Maximilianstrasse 58 D–80538 München (DE).

(81) **Bestimmungsstaaten:** JP, US, europäisches Patent (AT, BE, CH, CY, DE, DK, ES, FI, FR, GB, GR, IE, IT, LU, MC, NL, PT, SE).

Veröffentlicht
Ohne internationalen Recherchenbericht und erneut zu veröffentlichen nach Erhalt des Berichts.

(54) **Title:** GROWTH FACTOR–CONTAINING COMPOSITION FOR HEALING TISSUE DAMAGE

(54) **Bezeichnung:** WACHSTUMSFAKTOR–ENTHALTENDE ZUSAMMENSETZUNG ZUR HEILUNG VON GEWEBESCHÄDEN

(57) **Abstract**

The invention relates to a composition comprising at least one thrombocytic growth factor, fibrin and/or one precursor thereof, preferably fibrinogen, and at least one additional polymer and/or one precursor thereof. In a preferred embodiment, the thrombocytic growth factor is reversibly bound to fibrin and/or fibrinogen and to the additional polymer and/or the precursor thereof. The invention also relates to the composition in which the fibrin and/or fibrinogen and the polymer and/or the precursor thereof construct a matrix. In addition, the invention relates to the use of the composition for treating damages in tissues which are characterized by having a low blood flow and/or a diminished ability to regenerate, as well as for treating damages in skin and/or soft tissues. Elastic or hyaline fibrous cartilage and fascial tissue belong, in particular, to these tissues.

(57) **Zusammenfassung**

Die vorliegende Erfindung betrifft eine Zusammensetzung umfassend mindestens einen thrombozytären Wachstumsfaktor, Fibrin und/oder eine Vorstufe davon, vorzugsweise Fibrinogen, und mindestens ein weiteres Polymer und/oder eine Vorstufe davon. In einer bevorzugten Ausführungsform ist der thrombozytäre Wachstumsfaktor reversibel an Fibrin und/oder Fibrinogen und das weitere Polymer und/oder die Vorstufe davon gebunden. Die Erfindung betrifft ferner die Zusammensetzung, in der das Fibrin und/oder Fibrinogen und das Polymer und/oder die Vorstufe davon eine Matrix ausbilden. Die Erfindung betrifft ferner die Verwendung der Zusammensetzung zur Behandlung von Schäden in Geweben, die durch geringe Durchblutung und/oder verminderte Regenerationsfähigkeit charakterisiert sind, sowie von Schäden in Haut und/oder Weichgeweben. Insbesondere gehören zu diesen Geweben elastischer bzw. hyaliner Faser–Knorpel und Fasziengewebe.

LEDIGLICH ZUR INFORMATION

Codes zur Identifizierung von PCT-Vertragsstaaten auf den Kopfbögen der Schriften, die internationale Anmeldungen gemäss dem PCT veröffentlichen.

AL	Albanien	**ES**	Spanien	**LS**	Lesotho	**SI**	Slowenien
AM	Armenien	**FI**	Finnland	**LT**	Litauen	**SK**	Slowakei
AT	Österreich	**FR**	Frankreich	**LU**	Luxemburg	**SN**	Senegal
AU	Australien	**GA**	Gabun	**LV**	Lettland	**SZ**	Swasiland
AZ	Aserbaidschan	**GB**	Vereinigtes Königreich	**MC**	Monaco	**TD**	Tschad
BA	Bosnien-Herzegowina	**GE**	Georgien	**MD**	Republik Moldau	**TG**	Togo
BB	Barbados	**GH**	Ghana	**MG**	Madagaskar	**TJ**	Tadschikistan
BE	Belgien	**GN**	Guinea	**MK**	Die ehemalige jugoslawische Republik Mazedonien	**TM**	Turkmenistan
BF	Burkina Faso	**GR**	Griechenland			**TR**	Türkei
BG	Bulgarien	**HU**	Ungarn	**ML**	Mali	**TT**	Trinidad und Tobago
BJ	Benin	**IE**	Irland	**MN**	Mongolei	**UA**	Ukraine
BR	Brasilien	**IL**	Israel	**MR**	Mauretanien	**UG**	Uganda
BY	Belarus	**IS**	Island	**MW**	Malawi	**US**	Vereinigte Staaten von Amerika
CA	Kanada	**IT**	Italien	**MX**	Mexiko		
CF	Zentralafrikanische Republik	**JP**	Japan	**NE**	Niger	**UZ**	Usbekistan
CG	Kongo	**KE**	Kenia	**NL**	Niederlande	**VN**	Vietnam
CH	Schweiz	**KG**	Kirgisistan	**NO**	Norwegen	**YU**	Jugoslawien
CI	Côte d'Ivoire	**KP**	Demokratische Volksrepublik Korea	**NZ**	Neuseeland	**ZW**	Zimbabwe
CM	Kamerun			**PL**	Polen		
CN	China	**KR**	Republik Korea	**PT**	Portugal		
CU	Kuba	**KZ**	Kasachstan	**RO**	Rumänien		
CZ	Tschechische Republik	**LC**	St. Lucia	**RU**	Russische Föderation		
DE	Deutschland	**LI**	Liechtenstein	**SD**	Sudan		
DK	Dänemark	**LK**	Sri Lanka	**SE**	Schweden		
EE	Estland	**LR**	Liberia	**SG**	Singapur		

Wachstumsfaktor-enthaltende Zusammensetzung zur Heilung von Gewebeschäden

Die vorliegende Erfindung stellt eine Zusammensetzung zur Verfügung, die mindestens einen thrombozytären Wachstumsfaktor (Zytokin), Fibrin und/oder eine Vorstufe davon, vorzugsweise Fibrinogen, und mindestens ein weiteres Polymer und/oder eine Vorstufe davon umfaßt. Erfindungsgemäß bindet der thrombozytäre Wachstumsfaktor reversibel an Fibrin und/oder Fibrinogen und das weitere Polymer oder die Vorstufe davon. Weiterhin umfaßt die Erfindung ein Verfahren zur Herstellung der Zusammensetzung, wobei diese vor allem zur Behandlung von Schäden in Geweben, die durch geringe Durchblutung und/oder verminderte Regenerationsfähigkeit charakterisiert sind, sowie in Haut- und/oder Weichgewebe, verwendet wird.

Besonders solche Gewebetypen, die eine Stütz- oder Füllfunktion haben, zeichnen sich häufig durch einen reduzierten Metabolismus und ebenfalls durch eine niedrige oder keine Durchblutung aus. Somit weisen diese bradytrophen Gewebe allgemein eine verringerte Geweberegenerationsfähigkeit auf. Zu diesen Geweben gehören unter anderem hyaliner , elastischer und Faser-Knorpel sowie Faszien. Wird ein solches Gewebe verletzt, ist die Heilung, falls überhaupt möglich, sehr langwierig, da aufgrund der geringen Durchblutungsrate die notwendigen signalvermittelnden Moleküle und Zellen sowie Metabolite zum Gewebeaufbau nur in geringen Konzentrationen herantransportiert und Abbauprodukte ebenfalls nur langsam abgeleitet werden. Darüber hinaus ist solches Gewebe durch eine verminderte Fähigkeit der Zellen zur Regeneration sowie eine geringere Zelldichte charakterisiert.

Die Häufigkeit der Verletzungen solcher Gewebe, die entweder akut auftreten oder auf Verschleiß zurückzuführen sind, ist sehr groß. So müssen z.B. in der Bundesrepublik Deutschland jährlich ca. 500 000 Patienten alleine an akuten oder degenerativen Schäden am Meniskus - ein aus Faserknorpel bestehender Teil des Kniegelenkes - behandelt werden.

Der Prozeß der Wundheilung der Haut ist ausführlich untersucht worden, wohingegen über die Heilung anderer Gewebe wie z.B. bradytropher Gewebe nur sehr wenig bekannt ist.

Heilung der Haut

In Untersuchungen zur Wundheilung der Haut - einem Gewebeverband mit einem aktiven Metabolismus - wurde festgestellt, daß der Heilungsprozeß aus einer Folge mehrerer Schritte besteht, während derer verschiedene zelluläre Infiltrate in das Wundgewebe eindringen. Sofort nach der Verwundung beginnt der Prozeß der Blutgerinnung, welcher sowohl auf humoralen als auch zellulären Reaktionen beruht. Die wichtigste zelluläre Antwort betrifft die Interaktion von Blutplättchen mit Fibrinogen, Thrombin und Kollagen. Nach Abschluß des Gerinnungsprozesses wandern verschiedene Subpopulationen von Leukozyten in den Wundbereich ein. Fibroblasten, Endothelialzellen und Epithelzellen folgen den Leukozyten. Es bilden sich Kapillargefäße in dem verwundeten Gewebe und es entsteht ein Granulationsgewebe. Die Fibroblasten sind verantwortlich für die Bildung der Gewebematrix, d.h. von Kollagen und Proteoglykanen und zu einem späteren Zeitpunkt von elastischen Fasern. Die biochemischen Zusammenhänge des Wundheilungsprozesses konnten bisher nicht vollständig geklärt werden. Es ist jedoch bekannt, daß eine Reihe von Wachstumsfaktoren (Zytokinen) aufgrund ihrer chemotaktischen und wachstumsstimulierenden Effekte für die Wundheilung unerläßlich sind. Diese Faktoren regulieren ebenfalls die Synthese der Proteine, die die extrazelluläre Matrix aufbauen (Kollagene, Elastin, Proteoglykane). Die ersten Wachstumsfaktoren, die den Wundheilungsprozeß initiieren und kontrollieren, werden in vivo aus Blutplättchen (Thrombozyten) freigesetzt. Die Blutplättchen gelangen aus den verletzten Blutgefäßen in das Wundgebiet. In den folgenden Phasen der Heilung übernehmen die Wachstumsfaktoren aus Makrophagen, Fibroblasten und Epithelzellen die Regulation des gesamten Prozesses (Bennett et al., Am. J. Surg.,1993,165,728-737; Bratigan, Wounds, 1996, 8 (3),78-90; Choucair et al., Adv. Clin. Res., 1997, 15 (1), 4558).

Zu der Gruppe der thrombozytären Wachstumsfaktoren zählen in nicht abschließender Weise z. B. die folgenden Faktoren:

- PDGF-AA; BB and AB -Form (von Plättchen stammender Wachstumsfaktor Formen AA, BB, AB,)
- TGF-α (transformierender Wachstumsfaktor α)
- TGF-ß (transformierender Wachstumsfaktor ß)
- PF-4 (Plättchenfaktor-4)
- ß-TG (ß-Thromboglobin)
- PD-ECGF (von Plättchen stammender, endothelialer Zellwachstumsfaktor),
- aFGF (saurer Fibroblasten Wachstumsfaktor)
- bFGF (basischer Fibroblasten Wachstumsfaktor)
- IGF (Insulin-ähnlicher Wachstumsfaktor)
- EGF (Epidermaler Wachstumsfaktor)
- KGF (Keratinozyten Wachstumsfaktor)
- SPARK
- RANTES
- Gro-[s1]α

Einzelne Wachstumsfaktoren wie PDGF, EGF oder bFGF wurden bereits daraufhin untersucht, ob sie in der Lage sind einen vollständigen Wundverschluß bei Hautwunden zu erzielen. Erste Untersuchungen mit einzelnen rekominanten Wachstumsfaktoren wie PDGF und bFGF ergaben, daß diese in gewissem Maß die Wundheilung stimulieren können, daß die vollständige Wundheilung jedoch schwierig zu erreichen war. Die Anwendung von thrombozytären Wachstumsfaktoren in der Heilung von chronischen Hautwunden wird z.B. in Glover J.L. et al., 1997, Adv. Wound Care, 10(1), 33-38 und EP 202 298 beschrieben.

Heilung von Knorpelgewebe

Es ist seit langem bekannt, daß geschädigtes Knorpelgewebe nur sehr selten spontan abheilt. Dies ist möglicherweise darauf zurückzuführen, daß sich die knorpelbildenden Chondrozyten nur extrem langsam vermehren sowie in den späteren Differenzierungsphasen eine sehr geringe metabolische Aktivität zeigen (Worn et al., Bone and Cartilaginous Tissue in Wound Healing, Herausgeber Cohen, Lindblad Sanders Com-

pany,1992). Es war überraschend, daß mit der erfindungsgemäßen Zusammensetzung gute Heilungsraten in diesem Gewebetyp erzielt werden konnten.

Heilung von Faserknorpel - Beispiel Meniskus

Im Fall der Meniskusverletzungen (Faserknorpel) treten die meisten Risse im Faserknorpelbereich des Vorderhorns, des Hinterhorns oder in der Längsrichtung auf (Fig. 1). Der Faserknorpel ist ein zellarmes Geflecht dichter, sich kreuzender Kollagenfaserschichten und Proteoglykanen. Auf Grund seiner mechanischen Eigenschaften dient er zur Reduktion von im Gelenk auftretenden Reibungen und zur Abfederung stoßartiger Bewegungen. Seine Ernährung erfolgt hauptsächlich durch Diffusion, da er nur ein begrenzt ausgebautes Blutgefäßsystem enthält. Die Zelldichte von Chondrozyten /Fibrochondrocyten ist gering. Das elastische Meniskusgewebe besteht zu 70% aus Wasser und zu ca. 30% aus Protein. Die Proteinhauptbestandteile, die überwiegend von Chondrozyten gebildet werden, sind:

- Kollagene (vor allem Kollagentyp I und geringere Mengen der Kollagentypen II, III, V und VI)
- Elastin
- diverse Proteoglykane
- andere Matrixproteine, wie z.B. Fibronektin und Thrombospondin

Mit zunehmendem Alter nimmt die Regenerationsfähigkeit des Meniskusgewebes dramatisch ab.

Für die Behandlung von entstandenen Meniskusschäden stehen bis heute verschiedene Therapieverfahren zur Verfügung, die je nach Schweregrad der Verletzung eingesetzt werden:

- Refixierung der Meniskusrisse (Vernahtung)
- Teilresektion (partielle Entfernung des Meniskus)
- Totalresektion (Entfernung des gesamten Meniskus)

Es besteht der begründete Verdacht, daß es zumindest bei den zwei letztgenannten chirurgischen Maßnahmen häufig zu Arthrosen innerhalb des Kniegelenkes kommt. Wird der Meniskus entfernt, so bedeutet das eine Reduktion der Kontaktfläche und damit eine deutliche Erhöhung des Druckes auf die verbliebene Knorpel-/Knochenfläche. Die Folge ist häufig eine Versteifung des Gelenkes. Zusammensetzungen zur erfolgreichen Behandlung von Schäden dieses Gewebetyps standen bisher nicht zur Verfügung.

Heilung des hyalinen Knorpels

Bei der Heilung des hyalinen Knorpels (z.B. femuraler Knorpel) treten die gleichen, vorstehend für die Heilung des Faserknorpels (Meniskus) ausgeführten Probleme auf. Diese Probleme führen ebenfalls dazu, daß in der Regel keine Heilung des Defekts stattfindet.

Die konventionellen operativen Behandlungsmaßnahmen umfassen die Total- oder Teil-Entfernung des defekten hyalinen Knorpels oder die Implantation künstlicher Gelenkteile aus Kunststoff oder Metall.

Seit kurzem wird versucht, das hyaline Knorpelgewebe durch Reimplantation körpereigener Chondrozyten zu regenerieren. Dafür werden dem Patienten gesunde Zellen entnommen, in Zellkultur vermehrt und wieder in den Defekt appliziert. Um die zellhaltige Flüssigkeit korrekt aufzutragen, muß jedoch zuerst in einem komplizierten chirurgischen Eingriff eine Tasche aus Knochenhaut gebildet werden, die die Wunde abdeckt (Brittberg et al., New Engl. J. of Medicine, 1994, 331, 14, 879-875). Dieses Verfahren ist bisher jedoch nur in wenigen Fällen erfolgreich angewendet worden und hat die Nachteile, daß eine komplizierte vorbereitende Operation durchgeführt werden muß, die Zellsuspension oft nicht in der Gewebetasche verbleibt, die Zahl der Zellen, die tatsächlich in der Wunde anwachsen, nicht ausreichend ist und dieses Verfahren außerdem mit einem sehr hohen Kostenaufwand verbunden ist. Zusammensetzungen zur Behandlung von Schäden in diesem Gewebetyp stehen bisher nicht zur Verfügung.

Heilung von Fasziengewebe

Die Behandlung von Faszienbrüchen, sogenannten Hernien , z.B. das Reißen von Fasziengewebe der Leiste, stellt ein zum Teil ähnliches Problem wie die Behandlung von Meniskusrissen dar. Makroskopisch und funktionell gibt es deutliche Unterschiede zum Meniskusgewebe. Im Hinblick auf seine biochemischen, metabolischen und mikrostrukturellen Eigenschaften ähneln sich beide Gewebetypen aber stark. Faszien sind dünne, aber feste Membranen, die aus einer relativ geringen Zahl an Zellen (Fibroblasten) und extrazellulärer Matrix (Proteinfasern) und Wasser bestehen. Das Gewebe ist kompakt und elastisch und enthält fast keine Blutgefäße. Die Regenerationseigenschaften sind eingeschränkt, vor allem die schlechte Qualität des Narbengewebes führt häufig zu Wiederbrüchen (Rezidiven) .

Ein Leistenbruch wird herkömmlicherweise durch mechanisches Zurückdrängen der ausgetretenen Organe und anschließendes Nähen der Bruchstelle behandelt. Dabei werden heutzutage oft flexible netzartige Implantate in die Naht eingearbeitet, um die Stabilität des Wundverschlusses zu erhöhen und ein Wiederaufbrechen zu verhindern. Diese Methode birgt jedoch das Problem, daß es oft zur Bildung von Seromen (Flüssigkeitsansammlungen) an der Implantatstelle und anderen Komplikationen kommt. Im allgemeinen wurde beobachtet, daß das Narbengewebe nicht selten nur eine geringe Stabilität aufweist und bei mechanischer Belastung häufig wieder aufreißt. Eine Zusammensetzung zur Behandlung von Wunden in diesem Gewebetyp ist bisher nicht bekannt.

Aus der Literatur ist eine Zusammensetzung zur Wundheilung von Weichteilwunden, insbesondere kutaner, dermaler, Schleimhaut- oder Epithelwunden in Vertebraten bekannt (EP-B1-0 243 179). Es wird darin eine Zusammensetzung umfassend fibrilläres Kollagen, 0,1 % bis 10 % (v/v bezogen auf Kollagen) Heparin oder Heparin-artiges Glykosaminoglykan oder Gemische davon, und eine wirksame Menge eines chemotaktischen, Wachstums- oder Differenzierungs-Faktors offenbart. Als bevorzugte Faktoren werden PDGF, FGF oder Gemische davon beschrieben. EP-B1-0 243 179 gibt keinen Hinweis auf die Verwendung von Fibrin oder Fibrinogen. Darüber hinaus sind die Ergebnisse, die im Zusammenhang mit der Behandlung von Weichteilwunden erhalten

werden, nicht übertragbar auf die hierin vorzugsweise behandelten bradytrophen Gewebe.

Es ist daher eine Aufgabe der vorliegenden Erfindung eine Zusammensetzung anzugeben, die es ermöglicht, Schäden in weichen Geweben, Hautgeweben, insbesondere jedoch in Geweben mit geringer Durchblutung und/oder geringer Regenerationsfähigkeit rasch und dauerhaft zu beheben.

Diese Aufgabe wird durch eine Zusammensetzung gelöst, die mindestens einen thrombozytären Wachstumsfaktor, Fibrin und/oder eine Vorstufe davon, vorzugsweise Fibrinogen, und mindestens ein weiteres Polymer oder eine Vorstufe davon umfaßt. Vorzugsweise ist der thrombozytäre Wachstumsfaktor reversibel an Fibrin und/oder Fibrinogen und/oder das weitere Polymer und/oder eine Vorstufe davon gebunden.

Als Gewebe, die durch eine geringere Regenerationsfähigkeit charakterisiert sind, werden im folgenden alle Gewebe bezeichnet, die im Körper vor allem eine strukturelle und mechanische Rolle besitzen und sich durch geringere Zelldichte, geringere oder keine Durchblutung und/oder dichte Fasernmasse auszeichnen, insbesondere elastischer, hyaliner und Faser-Knorpel sowie Fasziengewebe.

In einer bevorzugten Ausführungsform bilden Fibrin und/oder Fibrinogen, das weitere Polymer und/oder die Vorstufe davon, eine Matrix aus. Eine besonders wichtige Funktion derselben besteht darin, daß sie als „ provisorische" Matrix für die Einwanderung der Zellen dient. Die Matrix erleichtert die Kolonisierung des Defektes durch die Zellen. Somit erlaubt das weitere Polymer zusammen mit dem Fibrin das Ansiedeln von Zellen in dem Wundbereich und begünstigt somit die Heilungsvorgänge.

Das weitere Polymer dient auch zusammen mit dem Fibrin als Matrix für Wachstumsfaktoren und eventuell weitere, in der Zusammensetzung enthaltene Substanzen, die reversibel an die Gerüststruktur binden können. Die Matrix-Struktur stabilisiert weiterhin die Wachstumsfaktoren, insbesondere noch Einbringen in die Wunde, u.a. dadurch,

daß sie den Angriff von Proteasen auf die Wachstumsfaktoren verhindert bzw. herabsetzt.

In einer weiteren bevorzugten Ausführungsform hat die Matrix eine Schwamm-, Clot-, Granulat-, Stab-, Film- und/oder Membran-Form. Die Erfindung umfaßt auch Zusammensetzungen, deren Matrix mehrere Formen nebeneinander aufweist. So können beispielsweise Membranen verschiedener Dicke, unterschiedlich poröse Schwämme oder Granulate in bekannter Weise hergestellt werden, um so die Freisetzungsrate der Wachstumsfaktoren wunschgemäß zu beeinflussen.

Im Fall eines Meniskus-Defektes, der meistens rißförmig ist, können z.B. dünne Membranen mit guten Adhäsionseigenschaften verwendet werden, bei Faszienbrüchen dagegen können eher dickere Membranen verwendet werden. Bei Schäden des femuralen Knorpels ist ein Schwammträger optimal.

Überraschenderweise wurde gefunden, daß der Zusatz von Fibrin und/oder der Vorstufe davon, vorzugsweise Fibrinogen zu dem weiteren Polymer und/oder der Vorstufe davon die Eigenschaften des weiteren Polymers vorteilhaft modifiziert. Gemischte Zusammensetzungen umfassend Fibrin und/oder die Vorstufe davon, vorzugsweise Fibrinogen, und das weiteren Polymer oder die Vorstufe davon in Membran-Form, sind poröser als reine Polymer-Membranen, welches u.a. eine effektivere Einwanderung von Zellen in das Produkt ermöglicht. Weiterhin sind die erfindungsgemäßen Zusammensetzungen weniger empfindlich gegenüber vorzeitiger Biodegradation. Fibrin und/oder Fibrinogen beeinflussen ebenfalls die Stärke der Bindung des thrombozytären Wachstumsfaktors an die Matrix der erfindungsgemäßen Zusammensetzung.

Das weitere Polymer kann ein beliebiges, für pharmazeutische Zusammensetzungen zulässiges Polymer sein, wobei jedoch biologisch abbaubare Biopolymere bevorzugt sind.

Die erfindungsgemäße Zusammensetzung umfaßt weiterhin einen thrombozytären Wachstumsfaktor, der vorzugsweise humanen oder tierischen Ursprungs ist. Der Aus-

druck „Wachstumsfaktor" wird im Rahmen der vorliegenden Erfindung bedeutungsgleich zu dem Ausdruck „Zytokin" verwendet.

Dabei können die Wachstumsfaktoren nach ihrer Isolierung und Reinigung (siehe Beispiel 1) chemisch oder enzymatisch modifiziert werden, z.B. durch Änderungen des Glykosylierungsmusters, Bildung von monomeren oder polymeren Formen der Wachstumsfaktoren, chemische Modifizierung der Seitenketten.

In einer bevorzugten Ausführungsform ist der thrombozytäre Wachstumsfaktor ein autologer Wachstumsfaktor aus dem Eigenblut des Patienten. Durch Verwendung eines körpereigenen Wachstumsfaktors werden potentielle Abwehrreaktionen gegen die erfindungsgemäße Zusammensetzung vermieden , vor allem aber wird die mit den Fremdblutprodukten verbundene Infektionsgefahr drastisch reduziert. Die autologen Faktoren können gewonnen werden, indem dem jeweiligen Patienten eine Blutprobe entnommen wird und die Blutplättchen daraus isoliert werden. Nach weiterer Aufreinigung der Zellpräparation werden die Blutplättchen zur Degranulation stimuliert, so daß sie thrombozytäre Wachstumsfaktoren und andere regulatorische Substanzen freisetzen. Ein Präparat mit diesen Faktoren kann dem Patienten wieder zugesetzt werden.

In einer weiteren bevorzugten Ausführungsform ist der thrombozytäre Wachstumsfaktor ein rekombinanter Wachstumsfaktor, der zusätzlich durch Deletionen, Additionen, Inversionen, Insertionen oder Punktmutationen in seiner Aminosäuresequenz verändert sein kann.

Die vorliegende Erfindung stellt weiterhin eine bevorzugte Zusammensetzung zur Verfügung, in der der thrombozytäre Wachstumsfaktor ausgewählt ist aus der Gruppe, umfassend PDGF, TGF-α, TGF-β, PF-4, β-TG, PD-ECGF, aFGF, bFGF, IGF, EGF, KGF, SPARK, RANTES, Gro-alpha und/oder ein entsprechendes Vorläufermolekül. Dabei kann einer der genannten Wachstumsfaktoren alleine oder in Verbindung mit anderen Faktoren in der Zusammensetzung enthalten sein.

In einer weiteren bevorzugten Ausführungsform umfaßt die erfindungsgemäße Zusammensetzung eine Mischung mehrerer thrombozytärer Wachstumsfaktoren.

Die erfindungsgemäße Zusammensetzung umfaßt vorzugsweise den thrombozytären Wachstumsfaktor im Bereich von 10 bis 500 µg, bezogen auf 100 mg Trockenmaße des fertigen Endproduktes.

Eine besonders bevorzugte Mischung ist eine Mischung mehrerer thrombozytärer Wachstumsfaktoren, die durch Degranulierung von Granula von Blutplättchen und nahcfolgende Lyse der Granula aus diesen freigesetzt werden (siehe Beispiel 1). Im folgenden wird diese Mischung von Wachstumsfaktoren als REL (platelet releasate) bezeichnet.

Eine besonders bevorzugte Zusammensetzung dieser Erfindung enthält eine Mischung der thrombozytären Wachstumsfaktoren von 1 bis 500 ng PDGF/ml REL, 1 bis 1000 ng TGF-ß/ml REL, 1 bis 400 µg PF-4/ml REL, 1 bis 400 µg ß-TG/ml REL, 1 bis 2000 ng bFGF/ml REL und 1 bis 500 ng PD-ECGF/ml REL.

Eine überaus bevorzugte Zusammensetzung enthält die Mischung von 5 bis 100 ng PDGF/ml REL, 5 bis 200 ng TGF-ß/ml REL, 10 bis 80 µg PF-4/ml REL, 10 bis 80 µg ß-TG/ml REL, 10 bis 400 ng bFGF/ml REL und 5 bis 200 ng PD-ECGF/ml REL.

Die erfindungsgemäße Zusammensetzung zeigt überraschenderweise einen hervorragenden Effekt insbesondere auf die Heilung von bradytrophen Geweben (siehe Beispiele 5, 6, 7).

Die erfindungsgemäße Zusammensetzung umfaßt ferner Fibrin und/oder eine Vorstufe davon, vorzugsweise Fibrinogen.

Vorzugsweise ist das Fibrin und/oder Fibrinogen humanen oder tierischen Ursprungs.

Dabei können das Fibrin und/oder das Fibrinogen nach ihrer Isolierung und Reinigung (siehe Beispiel 1) chemisch oder enzymatisch modifiziert werden, z.B. durch Bindung von monomeren oder polymeren Formen der Wachstumsfaktoren.

In einer bevorzugten Ausführungsform ist das Fibrin und/oder Fibrinogen autologer Herkunft, d.h. es stammt aus dem Eigenblut des Patienten . Durch Verwendung körpereigenen Fibrins und/oder Fibrinogens werden potentielle Abwehrreaktionen gegen die hier beschriebene Zusammensetzung vermieden , vor allem wird aber die mit den Fremdblutprodukten verbundene Infektionsgefahr drastisch reduziert. Die autologen Faktoren können gewonnen werden, indem dem jeweiligen Patienten eine Blutprobe entnommen wird und gemäß dem Fachmann bekannten Verfahren Fibrinogen isoliert wird. So erhaltenes Fibrin und/oder Fibrinogen kann dem Patienten wieder zugesetzt werden.

In einer weiteren bevorzugten Ausführungsform ist das Fibrin und/oder Fibrinogen rekombinantes Fibrin und/oder Fibrinogen, das zusätzlich durch Deletionen, Additionen, Insertionen, Inversionen oder Punktmutationen in seiner Aminosäuresequenz verändert sein kann.

Die erfindungsgemäße Zusammensetzung umfaßt vorzugsweise 0,1 bis 99 mg Fibrin und/oder Fibrinogen, bezogen auf 100 mg Trockenmasse des Endproduktes.

In einer bevorzugten Ausführungsform enthält die erfindungsgemäße Zusammensetzung 20 bis 50 mg Fibrin und/oder Fibrinogen.

Bei einer weiteren bevorzugten Ausführungsform ist das weitere Polymer ein anderes Biopolymer als Fibrin oder die nicht-polymere Vorstufe davon. Das weitere Polymer dient dabei zusammen mit dem erfindungsgemäßen Fibrin-Zusatz u.a. der mechanischen Unterstützung der Wundstelle, der Einführung von aktiven Komponenten in die Gewebslücke und zum Ausfüllen der Gewebelücke.

Die Erfindung stellt verschiedene Arten von Zusammensetzungen mit den gewünschten biologischen und mechanischen Eigenschaften zur Verfügung. Diese Eigenschaften hängen von der medizinischen Indikation bzw. Anwendung ab. Das Hauptmerkmal der Erfindung ist, daß für jede spezielle medizinische Anwendung eine optimale Zusammensetzung angeboten werden kann. Gleichzeitig bietet die Erfindung ein einfaches Verfahren, um die verschiedenen Formen der Zusammensetzung herzustellen. Die biologischen und mechanischen Eigenschaften der verschiedenen Zusammensetzungen können durch Variation der folgenden Parameter beeinflußt werden:

- Substanzen, die als weiteres Polymer benutzt werden, z.B. Kollagen oder PGA
- Struktur des weiteren Polymers (z.B. Schwamm- oder Membranstruktur)
- Porengröße des weiteren Polymers
- Mengenverhältnis von Fibrin zu dem weiteren Polymer
- Mengenverhältnis von Wachstumsfaktor/en zu dem weiteren Polymer und Fibrin
- Eingesetztes Herstellungsverfahren des Endpräparates (z.B. Gefriertrocknung oder Lufttrocknung)

Einer der wichtigsten Parameter bei der Bestimmung der Eigenschaften des Produktes ist die Menge des im Endprodukt vorhandenen Fibrins. Die Menge des eingesetzten Fibrins und die Form des Endproduktes (poröser Schwamm oder Membran) beeinflussen stark die Diffusionsraten der Wachstumsfaktoren. So sind z.B. Endprodukte in Form eines Schwamms, welche Kollagen und Fibrin in einem Verhältnis von 5:1 enthalten, durch eine relativ schnelle Diffusion der Wachstumsfaktoren aus dem Präparat in das umgebende Gewebe charakterisiert. Dieses Endprodukt ist ebenfalls durch eine schnelle Biodegradation gekennzeichnet, wodurch es gut geeignet für die Anwendung in Geweben mit relativ akivem Stoffwechsl ist. Ein vergleichbares Endprodukt in Form eines Schwammes, das mehr Fibrin enthält (Verhältnis von Kollagen zu Fibrin 1:1) zeigt eine geringere Diffusionsrate und eine langsamere Biodegradation im Vergleich mit dem oben beschriebenen Endprodukt. Solch eine Zusammensetzung ist daher gut geeignet für die Behandlung von Knorpeldefekten, da die Heilung von Knorpelgewebe eine lang anhaltende Stimulation mit Wachstumsfaktoren benötigt.

Allgemein sind Endprodukte in Form von Membranen durch extrem kleine Poren, feste Struktur, geringe Diffusionsrate, langsame Biodegradation und langsame Kolonisation mit Zellen im Gegensatz zu schwammförmigen Endprodukten charakterisiert. Im Falle von Zusammensetzungen in Membranform können die biologischen und mechanischen Eigenschaften ebenfalls durch Variation der Fibrinmenge beeinflußt werden.

In einer bevorzugten Ausführungsform wird die Matrix der erfindungsgemäßen Zusammensetzung, die von Fibrin und/oder Fibrinogen und dem weiteren Polymer und/oder der Vorstufe davon ausgebildet wird, abhängig von der Indikation in unterschiedlicher Form bereitgestellt.

Die Membran-Form zeigt im allgemeinen eine niedrigere Freisetzungsrate der Wachstumsfaktoren im Vergleich zu der gleichen Zusammensetzung in Schwamm-Form.

In einer bevorzugten Ausführungsform umfaßt das weitere Polymer als Biopolymer Kollagen, Polyhyaluronsäure, Polyglykolsäure und/oder Polylactatsäure und/oder Mischungen davon. Als besonders geeignet hat sich dabei die Verwendung von flüssigem Kollagen des Atelopeptid-Typs erwiesen, da dieses Kollagen fast keine Immunabwehrreaktionen hervorruft. Je nach Wahl des Biopolymers und Wahl des Herstellungsverfahrens wird dabei die Porengröße der Matrix, ihre Dichte und folglich die Rate an aktiven Substanzen, die pro Zeiteinheit freigesetzt werden, bestimmt.

Erfindungsgemäß bevorzugt liegt das weitere Polymer und/oder die Vorstufe davon im Bereich von 1 bis 99 mg pro 100 mg Trockenmasse des Endproduktes.

Besonders bevorzugt ist eine erfindungsgemäße Zusammensetzung umfassend 10 bis 500 µg thrombozytärer Wachstumsfaktor, 20 bis 50 mg Fibrinogen und 50 bis 80 mg weitere Polymer pro 100 mg Trockenmasse des Endproduktes. Ein besonders bevorzugtes weitere Polymer ist Kollagen.

Die vorliegende Erfindung stellt weiterhin eine bevorzugte Zusammensetzung zur Verfügung, die einen Katalysator umfaßt, der die Polymerisation von Fibrinogen katalysiert.

Dieser Katalysator kann z.B. Thrombin, Calciumionen, Gerinnungsfaktor XIII oder eine Mischung davon sein. Dabei ist Thrombin ausreichend, um durch Spaltung von Fibrinogen zu Fibrin die Polymerisation desselben einzuleiten, durch die Zugabe von Calciumionen und Faktor XIII wird das Fibrin-Polymer und das Endprodukt jedoch zusätzlich stabilisiert.

Es wird eine weitere bevorzugte Zusammensetzung zur Verfügung gestellt, die einen weiteren Faktor zum Unterstützen von Gewebeheilungsprozessen umfaßt. Ein bevorzugter Faktor zum Unterstützen solcher Prozesse ist Fibronektin, Thrombospondin, Albumin, Heparin/ Heparane oder Mischungen davon. Dabei unterstützen Fibronektin und Thrombospondin die strukturgebende Wirkung der Matrixpolymere und beeinflussen weiterhin die Bindung von Wachstumsfaktoren und deren Stabilität. Heparin / Heparane verhindern die Bildung von Blutgerinnseln an der Wundstelle und beeinflussen die Bindung und Wirkung von Wachstumsfaktoren, während Albumin der Stabilisierung der Proteinkomponenten dient.

Eine wie oben beschriebene Zusammensetzung kann gemäß der vorliegenden Erfindung ein Arzneimittel oder ein Kosmetikum sein. Dabei kann die Zusammensetzung je nach gewünschtem Applikationsmodus weitere geeignete Hilfs- und Trägerstoffe, wie z.B. Puffer, Antibiotika, Desinfektionsmittel, Stabilisatoren , Plastifikatoren, Farbstoffe umfassen.

Die vorliegende Erfindung umfaßt weiterhin ein Verfahren zum Herstellen der oben beschriebenen Zusammensetzung, wobei mindestens ein thrombozytärer Wachstumsfaktor mit Fibrin und/oder einer Vorstufe davon, vorzugsweise Fibrinogen und dem weiteren Polymer und/oder der nicht-polymeren Vorstufe gemischt werden. Die Mischung der Komponenten kann gleichzeitig erfolgen. Es kann jedoch ebenfalls vorteilhaft sein, das vorgefertigte weitere Polymer in vorgegebener Form (z.B. als Schwamm, Membran etc.) mit einer Lösung umfassend Fibrinogen und die vorstehend beschriebenen aktiven Faktoren über einen längeren Zeitraum vorzuinkubieren, so daß sich die Zwischenräume des weiteren Polymers langsam mit Fibrinogen und den weiteren aktiven Komponenten der Zusammensetzung auffüllen. Die Polymerisations-

reaktion des Fibrinogens kann dann durch Hinzufügen von Calcium-Ionen und/oder Thrombin und/oder Calcium erfolgen.

Ist die Herstellung der Zusammensetzung in Film- oder Membran-Form gewünscht, so kann dies unter Verwendung des „mold casting" (In-Form-Gießens) durchgeführt werden. Die Formen bestehen hierbei aus inertem Material wie Teflon oder Polypropylen. Verwendbare Lösungen/Suspensionen haben eine Konzentration von 2-10 % (w/v) Polymer oder nicht-polymerer Vorstufe in einem geeigneten Lösungsmittel. Die Lösung kann weiterhin Plastifikatoren (Zucker, Glycerin) und/oder Substanzen enthalten, die die Trocknungsrate erhöhen wie z.B. Alkohole. Die Suspension wird in die Form gegossen. Man läßt die Suspension in einem sterilen Luftstrom bei 1°C bis 20°C trocknen. Der thrombozytäre Wachstumsfaktor und das Fibrinogen können vor oder nach dem Trocknen hinzugefügt werden.

Sollen Produkte in Schwamm-Form entsprechend der gewünschten Applikation in unterschiedlicher Stärke und Porengröße hergestellt werden, so können diese gemäß dem Fachmann bekannten Lyophilisationsverfahren unter gleichzeitiger Zugabe von weiterem Polymer, Fibrinogen, Wachstumsfaktoren und Katalysator erhalten werden. Alternativ können die Wachstumsfaktoren und das Fibrinogen zu der vorgefertigten porösen Form hinzugefügt werden. Das Gemisch kann sodann, wie vorstehend beschrieben, luftgetrocknet oder nochmals lyophilisiert werden. Alternativ kann das Gemisch in feuchtem „nassem" Zustand (als sogenannter „Clot") belassen werden und vor der Verwendung bei niedrigen Temperaturen, vorzugsweise -80°C, gelagert werden.

Stab-Formen und andere Formen des Produktes können durch bekannte Verfahren erhalten werden. Die Lösung oder Suspension mit den Vorstufen des Produktes können in unterschiedlichen Gießformen, die die gewünschten Formen aufweisen, vorliegen und nachträglich lyophilisiert oder luftgetrocknet werden. Zusätzlich kann die Form des fertigen Produktes durch Pressen in eine Form oder durch Stanzen optimiert werden.

In einer bevorzugten Ausführungsform des Verfahrens wird die Polymerisation des Fibrinogens und Bindung an das weitere Polymer oder die Vorstufe in vivo durchgeführt.

Dabei wird durch Zusetzen des Katalysators zu Fibrinogen an der Wundstelle ein schnelles Abbinden der flüssigen Mischung erzeugt und auf diese Weise ein Wundverschluß erzielt, der exakt der Form der Wunde angepaßt ist.

In einer weiteren bevorzugten Ausführungsform der Erfindung wird der thrombozytäre Wachstumsfaktor entweder vor oder während der Polymerisation mit den Vorstufen oder nach erfolgter Polymerisation mit Fibrin und dem weiteren Polymer in Kontakt gebracht.

Eine bevorzugte Verwendung der erfindungsgemäßen Zusammensetzung stellt die Behandlung von Schäden in Geweben mit geringer Regenerationsfähigkeit und/oder geringer Durchblutung dar.

In einer bevorzugten Ausführungsform wird eine erfindungsgemäße Zusammensetzung zur Behandlung von Schäden des Knorpels verwendet. In einer besonders bevorzugten Ausführungsform dient die Zusammensetzung der Behandlung von Schäden im Faserknorpel des Meniskus und Defekten des elastischen und hyalinen Knorpels (z.B. Kniegelenk, Femuralknorpel).

In einer weiteren bevorzugten Ausführungsform wird die Zusammensetzung zur Behandlung von Schäden des Fasziengewebes verwendet. Besonders bevorzugt dabei ist die Behandlung von Schäden des Fasziengewebes der Leiste (Leistenbruch).

Die vorliegende Erfindung betrifft ebenfalls die Verwendung einer oben beschriebenen Zusammensetzung zur Behandlung von schlecht heilenden, chronischen Wunden der Haut und des Weichgewebes. Hierbei ist die Schwammform eine besonders bevorzugte Form des Produktes. Abhängig von dem Typ und der Form der Wunde kann sich der Schwamm der lokalen Wundsituation anpassen. Wie bei der Heilung von Knorpel- und Fasziengewebe ist auch hier die langsame Abgabe (Depot-Effekt) von Wachstumsfaktoren erwünscht. Darüber hinaus erleichtert die Matrixstruktur des Produktes die Kolonialisierung der Gewebelücke durch Zellen.

Bei den zu behandelnden Schäden handelt es sich in einer bevorzugten Ausführungsform der Erfindung vor allem um chronische und schwer heilende Hautwunden und Weichgewebewunden folgender Genese: Diabetis, chronisch venöse Insuffizienz, arterielle Verschlußkrankheit, Dekubitus, Patienten mit Supression des Immunsystems. Eine weitere Anwendung stellen die nicht heilenden post-operativen Wunden der Haut und des Weichgewebes, wie z.B. die schwer heilenden Wunden nach Laparotomie, dar.

Die folgende Figur und die Beispiele erläutern die Erfindung.

Fig. 1 Darstellung des Meniskus und der am häufigsten auftretenden Meniskusverletzungen.

Beispiele

1. Isolierung thrombozytärer Wachstumsfaktoren (REL) aus Blutplättchen

Aus dem mit Citrat (ACD, acid citrat dextrose) versetzten Blut wird REL wie folgt isoliert.

Das Blut wird 20 Min bei 190 x g zentrifugiert, Temperatur 2 bis 6°C. Die obere Phase, das sogenannte PRP (platelet rich plasma; Bluttplättchen-reiches Plasma), das die Blutplättchen beinhaltet, wird dann bei 2000 x g, 10 min bei 2 bis 6°C zentrifugiert. Das Plättchen-Pellet (Sediment) wird in einem isotonischen Puffer suspendiert. Als isotonischer Puffer kann PBS (physiologische Kochsalzlösung in 10 mM Phosphatpuffer, pH 7,1) oder HBS (physiologische Kochsalzlösung in 5 mM HEPES-Puffer, pH 6,8) dienen. Die Plättchen werden durch wiederholtes (2x) Suspendieren und Zentrifugieren gewaschen. Die Plättchen werden dann in dem PBS- oder HBS-Puffer suspendiert, so daß vorzugsweise eine Suspension von 0,1 bis 2,0 x 10^9 Plättchen pro Milliliter entsteht (Messung z.B. mit Thrombocounter der Firma Coulter). Mit Hilfe von Thrombin oder anderen Agenzien werden die Plättchen degranuliert (Freisetzung des Inhalts der Granula). Vorzugsweise werden pro Milliliter Suspension 0,1 bis 2,0 Einheiten Thrombin (internationale Einheiten definiert als 15 Sek. Clotting-Zeit bei 37°C mit einer NIH-Einheit Fibrinogen

gemäß der Referenz Baughman D.J., 1970, Methods in Enzymol. 19, 145-157) eingesetzt.

Nach 10 min wird das Präparat nochmals suspendiert und bei 2000 x g 10 min bei 2 bis 6°C zentrifugiert. Der Überstand beinhaltet thrombozytäre Wachstumsfaktoren und andere thrombozytäre Faktoren und wird als REL bezeichnet.

2. Herstellung eines Polymers und von Polymer/Wachstumsfaktormischungen

2.1 Herstellung einer REL-enthaltenden Fibrinmembran(F/REL-M) und eines REL-enthaltenden Fibrinschwamms (F/REL-S):

Mit Hilfe der Cryopräzipitationsmethode wurde Fibrinogen aus 10 ml menschlichem Blut, das mit Citrat versetzt war, gewonnen nach Siedentop et al., Arch. Otolar. Head Neack Surg. 121 (1995), 769-772); Cama et al., Naturwiss. Band 48 (1961), 574. Die PPP-Plasmaprobe (platelet poor plasma PPP; Blutplättchen armes Plasma) wurde mit 8 % Ethanol bei 0°C für 2 Stunden inkubiert und anschließend stark abzentrifugiert. Das Fibrinogensediment wurde in 2 ml Wasser gelöst. Thrombozytäre Wachstumsfaktoren (REL) wurden aus 50 ml derselben Blutprobe durch Degranulierung der isolierten Blutplättchenfraktion mit Thrombin gewonnen (vgl. Beispiel 1). Nach Entfernung von Zelltrümmern und anderen Faktoren enthielt die REL-Mischung 30 µg des Zytokin-Leitmarkers β-TG pro Milliliter.

1 ml REL in 5 mM HEPES-Puffer (HBS), pH 6,8 und 1 ml an Fibrinogenlösung (2mg/ml) wurden gemischt und Glycerin wurde auf eine Endkonzentration von 0,5% (w/v) zugesetzt. Die Lösung wurde in eine Teflonform gegossen, Calciumchlorid wurde auf eine Endkonzentration von 5 mM zugesetzt und die Lösung wurde 1 Stunde bei 15°C inkubiert. Das resultierende Polymer wurde luftgetrocknet, so daß eine elastische feste Membran (F/REL-M) entstand.

Weiterhin wurde aus der gleichen REL-Ausgangsmischung eine Schwammform (F/REL-S) hergestellt durch Einfrieren des Fibrin-Polymers bei -80°C in einer Geschwindigkeit von 2°C/min. Sodann wurde das Fibrin-Polymer bei -5°C lyophili-

siert. Im Vergleich zur Membran-Form ist die entsprechende Schwammform sowohl voluminöser als auch poröser.

2.2 Herstellung einer PGA/Fibrin/REL-Membran (F/PGA/REL-M):

Konventionell erhältliche Polyglykolsäurematrix (PGA, 2 cm^2; z.B. von B. Braun, Melsungen, Deutschland) wurde mit einer Mischung aus 0,2 ml Fibrinogen (2 mg/ml) und 0,2 ml REL, wie vorstehend beschrieben, getränkt und das Fibrinogen polymerisiert. Das Produkt wurde ebenfalls luftgetrocknet.

Eine PGA/ Kollagen/ Fibrin /REL-Membran (PGA/C/F/REL-M) kann wie oben unter Zusatz von 0,2 ml Kollagen I (2 mg/ml) hergestellt werden.

2.3 Herstellung eines Kollagen-Schwammes (C/REL-S) und einer Kollagenmembran (C/REL-M):

Eine 5-%ige Lösung (w/v) aus Rinderkollagen Typ I (Boehringer Mannheim) wurde auf pH 4,0 eingestellt, und 3 ml dieser Lösung wurden mit 3 ml einer REL-Lösung (s. Beispiel 1) gemischt. Glycerin wurde auf eine Endkonzentration von 0,05% zugesetzt, die Mischung in eine Form gegossen und auf -85°C (2°C/Min.) abgekühlt. Die gefrorene Lösung wurde bei -5°C lyophilisiert. Der resultierende REL-enthaltende Schwamm (C/REL-S) war porös und flexibel.

Dieselbe Mischung kann ebenfalls zur Herstellung einer Kollagenmembran (C/REL-M) verwendet werden; anstatt durch Gefriertrocknung wird die Zusammensetzung dazu, wie unter 2.1 für Fibrin beschrieben, luftgetrocknet. Gleichwertige Zusammensetzungen wurden auch mit Kollagen aus Schweinen und Kollagen Typ II erzielt.

2.4 Herstellung eines gemischten Kollagen/Fibrin-Schwammes (C/F/REL-S) und einer gemischten Kollagen/Fibrinmembran (C/F/REL-M):

REL wurde wie vorstehend in Beispiel 1 µg/ml. Der Kollagen-Schwamm wurde wie vorstehend beschrieben aus 50 ml einer Citrat-Blutprobe eines einzigen Spenders hergestellt. Die β-TG Konzentration betrug 30 in Beispiel 2.3 beschrieben durch

Lyophilisation von Kollagen hergestellt. Der Schwamm wies eine Stärke von 0,4 cm auf und enthielt ungefähr 2.5 mg Kollagen/cm^2. 0,2 ml der rohen Fibrinogen-Lösung (2 mg/ml, hergestellt wie vorstehend beschrieben) wurde mit 0,2 ml REL gemischt, auf 2°C abgekühlt und mit Glycerin (Endkonzentration: 0,5 %), Calciumchlorid (Endkonzentration: 5 mM) und 5 Einheiten Thrombin versetzt. Zwei Quadratzentimeter des Kollagen-Schwammes wurden in die vorstehend genannte Lösung eingetaucht und über 1 h bei 15 °C inkubiert. Ein Teil der Präparation wurde unter Bildung eines Kollagen/Fibrin-Schwammes (F/C/REL-S) lyophilisiert. Ein anderer Teil der Präparation wurde unter Bildung einer Kollagen/Fibrin-Membran (F/C/REL-M) luftgetrocknet.

In Tabelle 1 ist die Menge an Wachstumsfaktor, die aus den hier beschriebenen Zusammensetzungen über einen Zeitraum von zwei Tagen austritt, aufgeführt.

3. Austritt von Wachstumsfaktoren aus verschiedenen Zusammensetzungen

Die unter Beispiel 2 beschriebenen Produkte wurden bei 4°C oder 37°C in 4 ml eines geeigneten Puffers (vorzugsweise PBS mit 2% HSA (Humanes Serum Albumin) inkubiert. In bestimmten Zeitabständen wurden Proben entnommen und durch die folgenden Tests auf ihren Gehalt an Wachstumsfaktoren untersucht:

3.1 Proliferationstest:

Stimulierende Effekte der Wachstumsfaktoren auf die Zellproliferation wurden in einem Proliferationstest wie von Porstmann et al., J. Immunol. Meth. 82 (1985), 169-179) beschrieben, durchgeführt. Dazu wurden zu Kulturen von humanen Hautfibroblasten die oben beschriebenen Proben zugesetzt. Die Stimulierung der Zellproliferation wird durch den verstärkten Einbau von nicht-radioaktivem Deoxyuracilderivat (BrdU) in die zelluläre DNA widergespiegelt. Für die Detektion des in die DNA eingebauten BrdUs wurde ein hoch sensitiver auf der ELISA-Technik basierender Chemolumineszenztest (Boehringer) eingesetzt. Die Inkorporation wurde in einem Mikroplattenluminometer gemessen. Dieser Test wurde ebenfalls eingesetzt, um die Stimulierung der Zellproliferation auf andere Zelltypen wie Keratinozyten und Chondrozyten zu messen.

3.2 Chemotaktischer Test:

Die chemotaktischen Eigenschaften der Wachstumsfaktoren wurden unter Verwendung des Monozyten-Migrationstests gemessen (Falk et al., J. Immunol. Meth. 33 (1980), 239-247). Dazu wurden menschliche Monozyten aus der PBMC (Periphere Blut-Mononukleäre Zellen)-Fraktion aus „Buffy Coats" von menschlichen Blutspendern isoliert. Für den Test wurde eine kommerziell erhältliche Chemotaxis-Kammer (Costar) benutzt. In diesem Gerät sind zwei Kammern vorhanden, die durch eine geeignete Membran getrennt werden. Die eine Kammer enthält Monozyten, die andere ein stimulierendes Agens. Die Migration von Monozyten in die Richtung des Stimulus wird durch Messung der Menge an Monozyten, die durch die Membran hindurchgewandert sind, bestimmt. Die Messung wird unter Verwendung eines sensitiven Densitometers durchgeführt.

3.3 ELISA für REL-Komponenten:

Die quantitative Messung von Wachstumsfaktoren und anderen Komponenten der REL-Mischung wurde mit Hilfe der ELISA-Technik und kommerziell erhältlichen Antikörpern gemessen (z.B. R&D Systems, Deutschland).

TABELLE 1A

Zusammensetzung	**Menge an freigesetztem Wachstumsfaktor β-TG als % des insgesamt gebundenen Faktors zur Zeit x in Std. (+/- 5%)**									
	0,0	**0,5**	**1,0**	**2,0**	**4,0**	**8,0**	**24,0**	**30,0**	**38,0**	**48,0**
F/REL-S	0	15	20	25	30	40	55	70	85	85
F/REL-M	0	5	10	15	20	30	45	60	70	70
F/PGA/REL-M	0	10	20	25	30	35	40	55	65	75
C/REL-S	0	25	40	45	55	65	75	80	80	85
C/REL-M	0	10	20	25	30	40	65	75	80	80
C/F/REL-S	0	5	10	15	20	25	55	75	80	80
C/F/REL-M	0	5	5	10	15	20	45	60	70	85

TABELLE 1B

Zusammensetzung	Proliferationsaktivität von freigesetzten Wachstumsfaktoren. Willkürliche Einheiten in % des mit nicht gebundenem REL erhaltenen Wertes; Zeit, Std.					
	0,0	**1,0**	**4,0**	**24,0**	**38,0**	**48,0**
F/REL-S	0	5	15	35	60	70
F/REL-M	0	5	5	25	50	60
F/PGA/REL-M	0	0	15	35	65	80
C/REL-S	0	5	40	70	70	80
C/REL-M	0	5	10	60	70	70
C/F/REL-S	0	5	15	40	55	85
C/F/REL-M	0	5	5	30	60	80

Die Ergebnisse aus Tabellen 1A und 1B zeigen deutlich, daß die getesteten Wachstumsfaktoren reversibel an das Polymer und/oder Fibrin binden. Die Bindungs- und Freisetzungsraten hängen von der Zusammensetzung der Polymere und ihrer Form ab. So sind die Freisetzungsraten für Wachstumsfaktoren aus Schwämmen größer und der Depot-Effekt entsprechend kleiner als bei den entsprechenden Membranen. Mischpolymere, z.B. Kollagen/Fibrin-Polymere, zeigen kleinere Freisetzungsraten im Vergleich zu Fibrin-freien Polymeren . Die aus den Polymeren freigesetzten Wachstumsfaktoren waren biologisch aktiv, wie anhand des Proliferations- und Chemotaxistests überprüft werden konnte.

4. Punktesystem zur Beurteilung der Wundheilung

Zur Beurteilung der Wundheilungsergebnisse auf histologischer und klinischer Ebene wurde gemäß Standardverfahren ein Punktesystem eingeführt. Die zugrundeliegenden Kriterien sind nachstehend aufgeführt:

Block I (Klinisches Bild des geheilten Organs):
Makroskopische Beurteilung des Narbengewebes

Größe des Narbengewebes	Punkte: 0-4
Textur des Narbengewebes (fest, elastisch, sanft/glatt, etc.)	Punkte: 0-6
Einheitlichkeit des Narbenmaterials	Punkte: 0-7
Adhäsion des Narbengewebes an das umgebende gesunde Gewebe:	Punkte: 0-5

allgemeiner Eindruck: Punkte: 0-4

Die Befunde wurden unabhängig voneinander von drei Experten untersucht.

Eine Punktzahl von 1-10 ist ein schlechtes Ergebnis, eine Punktzahl von 11-20 ein durchschnittliches Ergebnis, eine Punktzahl von 21-26 ein gutes Ergebnis.

Block II (Histologische Beurteilung):

Gewebematerial aus der Mitte der Narbe, aus dem Grenzbereich zwischen Narbe und normalem Gewebe und aus normalem Gewebe wurden gemäß bekannter histogischer Standardverfahren entnommen.

Es wurden Gewebeschnitte hergestellt, die mit Hämatoxylin/Eosin für die Lichtmikroskopie gefärbt wurden. Weiterhin wurden Gewebeschnitte durch Gold- und/oder Platin-Bedampfung für die Elektronenmikroskopie hergestellt.

Zelldichte im Vergleich zu gesundem Gewebe Punkte: 0-5

Anzahl der Kollagenfasern (in der elektronen-mikroskopischen Aufnahme) im Vergleich zu gesundem Gewebe Punkte: 0-5

Zell-Form im Vergleich zu gesundem Gewebe Punkte: 0-5

Allgemeiner Eindruck/Gewebe-Organisation: Punkte: 0-7

Die Schnitte wurden unabhängig voneinander von drei Experten untersucht. Eine Punktzahl von 1-8 ist ein schlechtes Ergebnis, eine Punktzahl von 9-15 ist ein durchschnittliches Ergebnis und eine Punktzahl von 16-25 ist ein gutes Ergebnis.

Block III (Physikalische Untersuchung)

Die Stärke der Narbe wurde mit der Stärke des normalen Gewebes unter Verwendung der Materialtest-Maschine gemäß dem von Roeddecker et al. beschriebenen Verfahren (Roeddecker et al., Theor. Surg. 8 (1993), 136-142) verglichen.

Das Punktesystem war wie nachstehend ausgeführt:

Reißfestigkeit vergleichbar mit normalem Gewebe (± 10 %):	Punkte: 10
70-90 % der Reißfestigkeit von normalem Gewebe	Punkte: 7
50-69 % der Reißfestigkeit von normalem Gewebe	Punkte: 5
30-49 % der Reißfestigkeit von normalem Gewebe	Punkte: 3
10-29 % der Reißfestigkeit von normalem Gewebe	Punkte: 2
ungefähr 5-9 % der Reißfestigkeit von normalem Gewebe	Punkte: 1
weniger als 5 % der Reißfestigkeit von normalem Gewebe	Punkte: 0

Eine Punktzahl von 7-10 ist ein sehr gutes Ergebnis, eine Punktzahl von 3-5 ist ein durchschnittliches Ergebnis, eine Punktzahl von 1-2 ist ein schlechtes Ergebnis und eine Punktzahl von 0 ist ein sehr schlechtes Ergebnis.

5. Heilung von Meniskusrissen mit REL-enthaltenden Zusammensetzungen

Die Experimente wurden mit Menisci von Kaninchen gemäß den in Roeddecker et al., J. of Surg. Res., 1994, 56, 20-27 und Ishimura et al., J. of Arthr. and Rel. Surg., 1997, 13 (5), 551-557 beschriebenen Techniken durchgeführt und ausgewertet. Dazu wurde eine Läsion von 3 mm Länge mit einem Skalpell in Zone II des Meniskus appliziert. In den Riß wurde ein REL-enthaltendes Fibrin/Kollagen-Polymer (C/F/REL-M) von ca. 1,5 mm Länge eingeführt. In den Kontrollexperimenten wurde entweder selbsthergestellte Fibrinogenlösung (vgl. Beispiel 2.1) mit Thrombin und Calciumchlorid (4 mg/ml Fibrinogen; 100 Einheiten Thrombin, 5 mM $CaCl_2$) vermischt und sofort in die Läsion eingeführt oder die Läsion wurde gar nicht behandelt. Die Heilung wurde nach 12 Wochen beurteilt. Das Narbengewebe und das umgebende Gewebe wurden standardhistologischen Tests unterworfen und seine morphologischen und makroskopischen Eigenschaften beurteilt.

Sowohl die mechanischen als auch die histologischen Analyseergebnisse der mit C/F/REL-behandelten Gruppe zeigten bessere Heilung (höhere Punktezahl in der vorstehenden Beurteilung) der Menisci als beide Kontrollgruppen. Das Polymer wurde resorbiert.

TABELLE 2

Punktezahl (Mittelwert)	Behandlung mit C/F/REL-M	Behandlung mit Fibrin-Kleber	Spontane Heilung
Block I (klinisches Bild)	21	15	10
Block II (histologische Beurteilung)	23	13	12
Block III (physik. Untersuchung)	5	3	2-3

6. Heilung von Leistenbrüchen mit PGA-REL-Membranen

Die Versuchstiere (Ratten) wurden in drei Gruppen aufgeteilt. 1,5 x 1,5 cm Standardschnitte wurden in die Bauchleiste der Tiere eingeführt und ein Polygluconsäurenetz eingenäht. In der Kontrollgruppe wurde ein Polygluconsäurenetz implantiert, in der Verum-Gruppe wurden PGA /F/REL-M und PGA/C/F/REL-M-Polymere verwendet. Nach 3 und 12 Wochen wurde das Ergebnis der Wundheilung bewertet, wobei die Hauptkriterien das makroskopische Bild der Wunde, die ex vivo mechanische Narbenstärke (Riß der Narbe unter Druck) und die histologische Bewertung (z.B. Kollagenanordnung, Fibroblastenanzahl) waren. Das Narbengewebe und umgebendes Gewebe wurde unter Verwendung der vorstehend ausgeführten standardhistologischen Techniken getestet und die morphologischen und makroskopischen Eigenschaften gemäß den vorstehenden Kriterien bewertet. Die Ergebnisse dieser Versuche demonstrieren signifikant höhere Resistenz der Narbe gegen ex vivo Leistenbruch in beiden Verum-Gruppen im Vergleich zu der Kontrollgruppe. Interessanterweise zeigte die histologische Analyse, daß Versuchstiere der Verum-Gruppen eine höhere Dichte an Fibroblasten und Kollagenfasern und eine definiertere, teilweise mit der Situation des gesunden Gewebes vergleichbare Anordnung der Fasern aufweisen.

TABELLE 3

Punktezahl (Mittelwert)	Behandlung mit PGA/C/F-REL-M	Behandlung mit PGA-REL	Behandlung mit PGA-Netz
Block I (Klinisches Bild)	20	17	15
Block II (Histologische Beurteilung)	24	20	12
Block III (Physik. Untersuchung)	7	3-5	2-3

7. Knorpelheilung mit REL-enthaltenden Zusammensetzungen

Der Effekt von REL enthaltenden Polymeren auf die Heilung von Knorpelgewebe wurde in Kaninchenmodellen untersucht. Dem Knorpel im Kniegelenk (Femurknochen) wurde ein Defekt zugefügt und in die so entstandene Wunde wurde ein REL-enthaltendes Polymer implantiert (C/F-REL-S) und das Knorpelgewebe bis zu 20 Wochen nach der Operation beobachtet. Das Narbengewebe und umgebende Gewebe wurde in den vorstehend ausgeführten histologischen Standardverfahren getestet und in Hinblick auf morphologische und makroskopische Eigenschaften bewertet. Die Analyse dieser Ergebnisse zeigte einen signifikant besseren Heilungsverlauf in der Gruppe, die mit einem REL-enthaltenden Polymer behandelt wurde.

TABELLE 4

Punktezahl (Mittelwert)	Behandlung mit C/F-REL-S	Behandlung mit Fibrin-Kleber	Spontane Heilung
Block I (Klinisches Bild)	15	8	3
Block II (Histologische Beurteilung)	16	8	4

PATENTANSPRÜCHE

1. Zusammensetzung, umfassend mindestens einen thrombozytären Wachstumsfaktor, Fibrin und/oder eine Vorstufe davon, vorzugsweise Fibrinogen, und mindestens ein weiteres Polymer und/oder eine Vorstufe davon.

2. Zusammensetzung nach Anspruch 1, **dadurch gekennzeichnet**, daß der thrombozytäre Wachstumsfaktor reversibel an Fibrin und/oder Fibrinogen und das weitere Polymer und/oder die Vorstufe davon gebunden ist.

3. Zusammensetzung nach Anspruch 1 oder 2, **dadurch gekennzeichnet**, daß das Fibrin und/oder Fibrinogen und das weitere Polymer und/oder die Vorstufe davon eine Matrix ausbilden.

4. Zusammensetzung nach Anspruch 3, **dadurch gekennzeichnet**, daß die Matrix Schwamm-, Clot-, Granulat-, Stab-, Film- und/oder Membran-Form hat.

5. Zusammensetzung nach mindestens einem der Ansprüche 1 bis 4, **dadurch gekennzeichnet**, daß der thrombozytäre Wachstumsfaktor humanen Ursprungs ist.

6. Zusammensetzung nach mindestens einem der Ansprüche 1 bis 4, **dadurch gekennzeichnet**, daß der thrombozytäre Wachstumsfaktor tierischen Ursprungs ist.

7. Zusammensetzung nach mindestens einem der Ansprüche 1 bis 6, **dadurch gekennzeichnet**, daß der thrombozytäre Wachstumsfaktor ein autologer Wachstumsfaktor ist.

8. Zusammensetzung nach mindestens einem der Ansprüche 1 bis 6, **dadurch gekennzeichnet**, daß der thrombozytäre Wachstumsfaktor ein rekombinanter Wachstumsfaktor ist.

9. Zusammensetzung nach mindestens einem der Ansprüche 1 bis 8, **dadurch gekennzeichnet**, daß der thrombozytäre Wachstumsfaktor ausgewählt ist aus der Gruppe, umfassend PDGF (von Plättchen stammender Wachstumsfaktor), TGF-α (transformierender Wachstumsfaktor α), TGF-ß (transformierender Wachstumsfaktor ß), PF-4 (Plättchenfaktor-4), ß-TG (ß-Thromboglobin), PD-ECGF (von Plättchen stammender, endothelialer Zellwachstumsfaktor), aFGF (saurer Fibroblasten Wachstumsfaktor), bFGF (basischer Fibroblasten Wachstumsfaktor), IGF (Insulin-ähnlicher Wachstumsfaktor), EGF (Epidermaler Wachstumsfaktor), KGF (Keratinozyten Wachstumsfaktor), SPARK, RANTES, Gro-alpha und/oder ein entsprechendes Vorläufermolekül.

10. Zusammensetzung nach mindestens einem der Ansprüche 1 bis 9, **dadurch gekennzeichnet**, daß sie eine Mischung mehrerer thrombozytärer Wachstumsfaktoren umfaßt.

11. Zusammensetzung nach mindestens einem der Ansprüche 1 bis 10, **dadurch gekennzeichnet,** daß der thrombozytäre Wachstumsfaktor im Bereich von 10 bis 500 µg pro 100 mg Trockenmasse des Endproduktes liegt.

12. Zusammensetzung nach Anspruch 10, **dadurch gekennzeichnet**, daß die Mischung mehrerer thrombozytärer Wachstumsfaktoren REL (aus Blutplättchen freigesetzte Mischung an Wachstumsfaktoren) ist.

13. Zusammensetzung nach Anspruch 12, **dadurch gekennzeichnet**, daß REL erhältlich ist durch Degranulierung von Granula von Blutplättchen.

14. Zusammensetzung nach mindestens einem der Ansprüche 10 bis 13, **dadurch gekennzeichnet**, daß die Mischung der thrombozytären Wachstumsfaktoren 1 bis 500 ng PDGF/ml REL, 1 bis 1000 ng TGF-ß/ml REL, 1 bis 400 µg PF-4/ml REL, 1 bis 400 µg ß-TG/ml REL, 1 bis 2000 ng bFGF/ml REL und 1 bis 500 ng PD-ECGF/ml REL umfaßt.

15. Zusammensetzung nach Anspruch 14, **dadurch gekennzeichnet**, daß die Mischung der thrombozytären Wachstumsfaktoren 5 bis 100 ng PDGF/ml REL , 5 bis 200 ng TGF-ß/ml REL, 10 bis 80 µg PF-4/ml REL, 10 bis 80 µg ß-TG/ml REL, 10 bis 400 ng bFGF/ml REL und 5 bis 200 ng PD-ECGF/ml REL umfaßt.

16. Zusammensetzung nach mindestens einem der Ansprüche 1 bis 15, **dadurch gekennzeichnet**, daß die Zusammensetzung Fibrinogen umfaßt.

17. Zusammensetzung nach mindestens einem der Ansprüche 1 bis 16, **dadurch gekennzeichnet**, daß das Fibrinogen autologes Fibrinogen ist.

18. Zusammensetzung nach mindestens einem der Ansprüche 1 bis 17, **dadurch gekennzeichnet,** daß das Fibrinogen im Bereich von 0,1 bis 99 mg pro 100 mg Trockenmasse des Endproduktes liegt.

19. Zusammensetzung nach Anspruch 18, **dadurch gekennzeichnet,** daß das Fibrinogen im Bereich von 20 bis 50 mg pro 100 mg Trockenmasse des Endproduktes liegt.

20. Zusammensetzung nach mindestens einem der Ansprüche 1 bis 19, **dadurch gekennzeichnet**, daß das weitere Polymer ein anderes Biopolymer als Fibrin oder seine nicht-polymere Vorstufe ist.

21. Zusammensetzung nach Anspruch 20, **dadurch gekennzeichnet**, daß das Biopolymer ausgewählt ist aus Kollagen, Polyhyaluronsäure, Polyglykolsäure und Polylactatsäure.

22. Zusammensetzung nach mindestens einem der Ansprüche 1 bis 20, **dadurch gekennzeichnet,** daß das weitere Polymer und/oder seine Vorstufe im Bereich von 1 bis 99 mg pro 100 mg Trockenmasse des Endproduktes liegt.

23. Zusammensetzung nach mindestens einem der Ansprüche 1 bis 22, **dadurch gekennzeichnet**, daß sie weiterhin einen Katalysator umfaßt, der die Polymerisation von Fibrinogen katalysiert.

24. Zusammensetzung nach Anspruch 23, **dadurch gekennzeichnet**, daß der Katalysator Thrombin, Calciumionen und/oder Gerinnungsfaktor XIII ist.

25. Zusammensetzung nach mindestens einem der Ansprüche 1 bis 24, **dadurch gekennzeichnet**, daß die Zusammensetzung weiterhin einen Faktor zum Unterstützen von Gewebeheilungsprozessen umfaßt.

26. Zusammensetzung nach Anspruch 25, **dadurch gekennzeichnet**, daß der Faktor zum Unterstützen von Gewebeheilungsprozessen Fibronektin, Thrombospondin, Albumin und/oder Heparin ist.

27. Zusammensetzung nach mindestens einem der Ansprüche 1 bis 26 als Arzneimittel.

28. Zusammensetzung nach mindestens einem der Ansprüche 1 bis 26 als Kosmetikum.

29. Verfahren zum Herstellen einer Zusammensetzung nach mindestens einem der Ansprüche 1 bis 20, **dadurch gekennzeichnet**, daß mindestens ein thrombozytärer Wachstumsfaktor mit Fibrin und/oder einer Vorstufe davon, vorzugsweise Fibrinogen, und mindestens einem weiteren Polymer oder der Vorstufe davon gemischt wird.

30. Verfahren nach Anspruch 29, **dadurch gekennzeichnet**, daß das Polymerisieren der Vorstufe in vivo stattfindet.

31. Verfahren nach Anspruch 29 oder 30, **dadurch gekennzeichnet,** daß der thrombozytäre Wachstumsfaktor vor oder während der Polymerisation mit den Vorstufen oder nach erfolgter Polymerisation mit den Polymeren in Kontakt gebracht wird.

32. Verwendung einer Zusammensetzung nach mindestens einem der Ansprüche 1 bis 28 zur Behandlung von Schäden in Geweben mit geringer Regenerationsfähigkeit und/oder geringer Durchblutung.

33. Verwendung einer Zusammensetzung nach Anspruch 32 zur Behandlung von Schäden des Knorpels.

34. Verwendung einer Zusammensetzung nach Anspruch 33 zur Behandlung von Schäden des elastischen Knorpels, hyalinen Knorpels oder Faser-Knorpels des Meniskus.

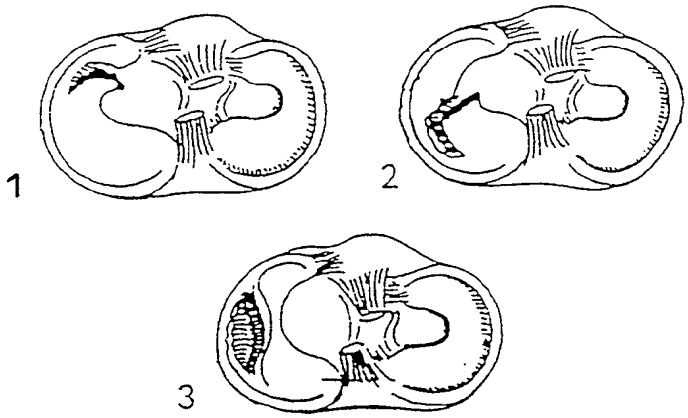
35. Verwendung einer Zusammensetzung nach Anspruch 32 zur Behandlung von Schäden des Fasziengewebes.

36. Verwendung einer Zusammensetzung nach Anspruch 35 zur Behandlung von Schäden des Fasziengewebes der Leiste.

37. Verwendung einer Zusammensetzung nach mindestens einem der Ansprüche 1 bis 28 zur Behandlung von akuten und/oder chronischen Schäden in Haut- und/oder Weichgeweben.

38. Verwendung einer Zusammensetzung nach Anspruch 37 zur Behandlung von Schäden mit folgender Genese: Diabetes, chronisch venöse Insuffizienz, arterielle Verschlußkrankheit, Dekubitus, Suppression des Immunsystems und/oder Laparotomie.

FIG. 1



Meniskusriß, Lokalisationen:
1: Vorderhorn; 2: Hinterhorn; 3: Längsrichtung („Eimerhenkelriß").